



PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

Japanese Patent
Publication No.
3157531

(11)Publication number : 04-282317

(43)Date of publication of application : 07.10.1992

(51)Int.Cl.

A61K 35/78

A61K 31/56

A61K 31/70

C07H 1/08

C07H 15/04

C07H 15/10

C07J 9/00

(21)Application number : 03-069006

(71)Applicant : SHOWA SANGYO CO LTD

(22)Date of filing : 08.03.1991

(72)Inventor : KANEKO TOSHIYUKI
YOSHIZAWA YASUKO

(54) FRACTIONATION OF SOYBEAN GLYCOLIPID AND AGENT FOR LOWERING
CHOLESTEROL LEVEL IN BLOOD USING SOYBEAN GLYCOLIPID AS ACTIVE COMPONENT

(57)Abstract:

PURPOSE: To obtain a glycolipid having physiological activity from soybean oil cake.

CONSTITUTION: Soybean oil cake is subjected to silica gel column chromatography and the glycolipid in the soybean oil cake is fractionated into fractions containing sterylacylglycoside, sterylglycoside and cerebroside and diglycosyl glyceride as respective main components by using chloroform/acetone as elution solvent. An excellent blood cholesterol depressing effect was found in soybean glycolipid cerebroside.

LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 特 許 公 報 (B 2)

(11) 特許番号

特許第3157531号
(P3157531)

(45) 発行日 平成13年4月16日 (2001. 4. 16)

(24) 登録日 平成13年2月9日 (2001. 2. 9)

(51) Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	
A 6 1 K 35/78		A 6 1 K 35/78	J
	31/70		31/70
A 6 1 P 3/06		A 6 1 P 3/06	
C 0 7 H 1/08		C 0 7 H 1/08	
	15/04		15/04
			D
請求項の数 1 (全 6 頁) 最終頁に続く			

(21) 出願番号	特願平3-69006	(73) 特許権者	000187079 昭和産業株式会社 東京都千代田区内神田2丁目2番1号
(22) 出願日	平成3年3月8日 (1991. 3. 8)	(72) 発明者	金子 俊之 千葉県市川市南大野1-40-12昭和産業 社宅210
(65) 公開番号	特開平4-282317	(72) 発明者	吉沢 康子 埼玉県北葛飾郡吉川町川藤850
(43) 公開日	平成4年10月7日 (1992. 10. 7)	(74) 代理人	100091856 弁理士 坂口 昇造
審査請求日	平成10年1月20日 (1998. 1. 20)	審査官	鶴見 秀紀
		最終頁に続く	

(54) 【発明の名称】 血中コレステロール低下剤

1

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】 大豆糖脂質セレブロシドを有効成分とする血中コレステロール低下剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】 本発明は大豆糖脂質セレブロシドを有効成分とする血中コレステロール低下剤に関する。

【0002】

【従来の技術】 大豆油を精製する際に発生する油さいは、リン脂質、トリグリセリド及び脂肪酸を主要成分とし、食品添加物用のレシチンの原料として利用されている。この油さいには、少量ではあるが各種の糖脂質が含まれており、ステリルアシルグリコシド、ステリルグリコシド、セレブロシド及びジグリコシルジグリセリドがその主な成分である。これらの糖脂質は油さい中での含

2

量が少ないうえリン脂質と極めて類似した挙動を示すため、リン脂質からの分離は困難であり、高純度に分画したものの実用的な利用は全くなされていない。大豆レシチン中に共存する糖脂質の分画ないし濃縮方法としては、シリカゲル・カラムクロマトグラフィーによるセレブロシド（特開昭60-224628）及びステリルグリコシド（特開昭62-238299）の濃縮方法、二酸化炭素超臨界クロマトグラフィーによる糖脂質画分の濃縮方法（特願平1-196864）、等が提案されている。このうちシリカゲル・カラムクロマトグラフィーによる方法では、カラム処理に先立ち、粗製レシチンから共存するトリグリセリドと脂肪酸を除去するため、溶剤として大量のアセトンを用いるのが通例であり、装置や溶剤回収に多大な経済負担を強いるものであった。また、超臨界二酸化炭素抽出では共存するリン脂質の除去

が不十分であり、純度の高い糖脂質は得られていない。

【0003】一方、糖脂質の有する生理作用についても研究が行われており、大豆由来のセブレロシドの中樞神経系抑制作用（特開昭60-224628）、ツルナエキス由来のセブレロシド類化合物の抗ストレス潰瘍剤（特開昭57-122018）、スフィンゴ糖脂質の担子菌類子実体形成促進作用（特開昭57-152883）等が知られている。

【0004】

【発明が解決しようとする課題】本発明は大豆油さいを原料として、従来得ることが困難であった高純度の糖脂質を簡便かつ効率的に濃縮・分離する方法を提供するとともに、これら糖脂質の新規用途として優れたコレステロール低下効果を有する食素材ないし薬剤を提供することを目的とする。

【0005】

【課題を解決するための手段】本発明の上記課題は、以下の発明によって達成された。

1. 水分含量が0.4%以下の大豆油さいをクロロホルムに溶解してシリカゲルに接触させ、次いでクロロホルム及び／またはアセトンを出溶溶媒とし、出溶溶媒中のアセトンの比率を高めつつ溶離することにより、大豆油さい中の糖脂質をステリルアシルグリコシドを主成分とする画分、ステリルグリコシドを主成分とする画分及びセブレロシドとジグリコシルグリセリドを主成分とする画分に、それぞれ分画することを特徴とする大豆糖脂質の分画方法。

2. 大豆糖脂質セブレロシドを有効成分とする血中コレステロール低下剤。以下、本発明を詳しく説明する。

【0006】本発明で原料として使用する大豆油さいは、大豆油の精製工程の一つ、いわゆる脱ガム工程で油脂から分離され、通常、食用ないし工業用レシチンの原料となるものである。本油さいは水分含量が0.4%以下となるよう適宜の手段を用いて乾燥して使用するが、市販の食品添加物あるいは飼料用のペースト状レシチン等をそのまま用いることもできる。

【0007】シリカゲルは、通常のカラムクロマトグラフィー用に用いられる粒度100～200メッシュ程度のものでビーズ状シリカゲル等を広く使用することができる。本発明では、まず上記油さいを固形分濃度が20～80（w/v）%となるようにクロロホルムに溶解し、必要により不溶解物を除去した後、これを予めクロロホルムを用いて充填したシリカゲル・カラム中を通過させる、等してシリカゲルと接触させる。本シリカゲル処理においては、原料とする油さいの水分含量を0.4%以下とすることが必須であり、油さいの水分含量が0.4%を上回るときは、その水分がシリカゲルに移行して活性度を低下させるためと思われるが、糖脂質各成分の吸着が不十分となり、出溶溶媒による溶離の初期段階で糖脂質の大部分が分画されないまま一時に溶出する

ことがある。油さいとシリカゲルの重量比は、一般に1:1～10、より好ましくは1:2～5程度である。カラムに供したクロロホルム溶液の全量がカラムに接触した後、クロロホルム及び／またはアセトンを出溶液とし、出溶液中のアセトンの比率を段階的もしくは連続的に高めつつ、糖脂質を分別溶離、回収する。両溶剤の混合比率は使用するシリカゲルの活性度等により異なるため一概にいうことはできないが、通常、クロロホルム／アセトンが100/0～80/20で中性脂質、脂肪酸、ステロール及びホスファチジル・イノシトールを主成分とする画分（以下F1ということがある）が、同80/20～50/50でステリルアシルグリコシドを主成分とする画分（同F2）が、同50/50～10/90でステリルグリコシドを主成分とする画分（同F3）が、同10/90～0/100でセブレロシドとジグリコシルグリセリドを主成分とする画分（同F4）の4画分に分画する。糖脂質各画分の溶出順序は、糖脂質の極性の差に基づくため、常に一定しており、出溶溶剤の使用量などについては、適宜予備試験等により適当な条件を選択することができる。

【0008】上記各画分中の主成分の糖脂質の含量は、F2のステリルアシルグリコシドは60～80%、F3のステリルグリコシドは40～60%、F4のセブレロシドは40～50%、ジグリコシルグリセリドは30～50%程度である。これらの糖脂質は、必要に応じ例えば以下の方法により、更に精製することができる。すなわち、ステリルアシルグリコシド、セブレロシド及びジグリコシルグリセリドは、クロロホルム／メタノール溶媒系を用いたシリカゲル・カラムクロマトグラフィーで精密分画することによって、ステリルグリコシドは、本物質がクロロホルムに難溶であることを利用して、これに少量のクロロホルムを加えて過することによって、それぞれ純度90%以上のものを得ることができる。

【0009】本発明者らは、上記分画により得られる糖脂質の生理作用につき、鋭意研究するなかで、特にセブレロシドを主成分とする糖脂質画分が血中のコレステロールを低下させる効果があることを見出し、大豆糖脂質セブレロシドを有効成分とする血中コレステロール低下剤に関する、本願第2の発明を完成した。本願第2の発明で使用する大豆糖脂質としては、セブレロシドの含量が固形分中20%程度以上であることが望ましく、前記のF3画分をそのまま、あるいはこれを更にシリカゲル・カラムクロマトグラフィー等で精製したものが好適に用いられる。

【0010】本発明のコレステロール低下剤は、上記糖脂質画分を常用の医薬用担体を用いて医薬剤とする。例えば、経口用固形剤を得る場合は、賦形剤、結合剤、崩壊剤、増沢剤、矯味剤等を加え、常法によって錠剤、か粒剤、カプセル剤とする。また、適宜の安定剤その他常用の助剤を加え、常法により注射剤などの非経口用製剤

とすることもできる。本医薬剤中に含量させる有効成分の配合量は約5～50%であり、投与量はその適用状態により適宜変更し得るが大体100～500mg/kg/日程度で十分その効果を奏する。また、本発明のコレステロール低下剤は、上記有効成分をそのまま、あるいはこれを担体に配合して飲食物、動物飼料に添加使用する。この場合、飲食物、飼料に対する有効成分の配合量は0.1～0.5%程度で十分その効果を奏することができる。なお、本糖脂質画分の急性毒性はLD50(ICR系マウス、経口投与)5g/kg以上である。

【0011】

【実施例】次に本発明を実施例により説明する。

実施例1

*市販のペースト状大豆レシチン500gをクロロホルム5lに溶解し、これを予めクロロホルムを用いて充填したシリカゲルカラム(和光純薬工業(株)製 Wakogel C-200 1.5kg)に通過させた。カラムに供した溶液の全量がカラムに接触した後、クロロホルム8l(画分F1)、クロロホルム/アセトン=8/5 10l(同F2)、クロロホルム/アセトン=5/8 6l及びクロロホルム/アセトン=1/8 2l(同F3)、クロロホルム/アセトン=1/8 7l及びアセトン6l(同F4)を順次流下させ、溶出液をそれぞれ別個に回収した。各画分は溶媒を留去して収量を測定するとともに、薄層クロマトグラフィーによりその成分を調べた。結果は表1に示すとおりであった。

* 【0012】

表1

画分	収量	主要な糖脂質成分	同左含量	その他成分
F1	346 g	—	— %	中性脂質,脂肪酸,ステロール,ホスファチジルイノシトール
F2	42	ステリルアシルグリコシド	72	ステリルグリコシド,ホスファチジン酸
F3	7.5	ステリルグリコシド	56	ホスファチジン酸,ステリルアシルグリコシド
F4	12	セレブロシド ジグリコシルグリコシド 及びステリルグリコシド	38 48	ホスファチジン酸

【0013】実施例2

米国産大豆からn-ヘキサンで抽出した粗原油の脱ガム工程で得られた大豆油さいを、ロータリーエバポレーターを用いて水分を0.24%まで乾燥した。本乾燥油さい500g※

表2

※をクロロホルム5lに溶解し、不溶物を濾別した後、実施例1と同様にしてシリカゲル・カラムクロマトグラフィーに供した。各画分の収量と主要な糖脂質の種類と含量は表2の通りであった。

画分	収量(g)	主な糖脂質	同左含量(%)
F2	45	ステリルアシルグリコシド	68
F3	8	ステリルグリコシド	48
F4	14	セレブロシド ジグリコシルジグリセリド	42 46

【0014】参考例1

実施例1の操作を複数回繰り返して各画分を集め、合わせたF3及びF4画分からの以下の方法により、ステリルグリ

コシド、セレブロシド及びジグリコシルジグリセリドの画分・精製を行った。F3画分25gをクロロホルム500mlに分散させ、東洋濾紙No.5Bを用い減圧濾過を行う。濾紙

7

8

上の残渣をクロロホルムで洗浄し、風乾する。このもののステリルグリコシド含量は90%以上であり、収量は8.5gであった。F4画分はその17gをクロロホルム300mlに溶解し、シリカゲル(Wako-gel C-200) 300gをクロロホルムで充填して平衡化させたカラム(4.5φ x 40cm)に供した。次いでクロロホルム600ml及びクロロホルム/メタノール=95/5 2200ml、クロロホルム/メタノール=9*

* 0/10 400ml、クロロホルム/メタノール=85/15 600ml、クロロホルム/メタノール=85/15400ml、クロロホルム/メタノール=80/201500mlを順次流下させ、それぞれの画分をF4-1、F4-2、F4-3、F4-4及びF4-5として分取した。それぞれの画分から溶剤を留去して収量を計るとともに、薄層クロマトグラフィーにより成分とその含量を調べた。結果は表3のとおりであった。

表3

画分	収量	ステリルグリコシド	セブプロシド	ジグリコシルグリセリド	リン脂質
F4-2	2.5 g	> 80 %	5.5 %	10 %	6.3 %
F4-3	6.2	痕跡	94.0	—	3.1
F4-5	5.5	—	4.6	> 90	2.4

【0015】実施例3

4週令の Wistar系雄性ラット7匹を1群とし、表4に記載のように通常飼料、これに実施例1で得られたセブプロシド38%を含むF3画分を1%添加、及び対照として市販の食品用レシチン(昭和産業(株)製)を5%添加、の計3試験区を設定し、34日間の飼育試験を行った。飼育中、飼料と水は自由に摂取させた。経時後、ラットの体*

※重を測定し、採血及び開腹を行い、常法により肝機能検査及び血液検査を行った。結果は表5に示すように、セブプロシドを38%含有するF3画分を1%添加飼料を給与した区では顕著なコレステロール低下効果が見られ、その程度はレシチンを5%添加した区と同等もしくはそれを上回るものであった。

【0016】

表4 試験飼料の組成

	通常飼料	セブプロシド添加飼料	レシチン添加飼料
カゼイン	20.0	20.0	20.0
炭水化物	57.3	57.3	57.3
セルロース	5.0	5.0	5.0
ビタミンミックス	2.0	2.0	2.0
ミネラルミックス	5.0	5.0	5.0
メチオニン	0.3	0.3	0.3
塩化コリン	0.3	0.3	0.3
大豆油	10.0	9.0	5.0
セブプロシド(F3)	—	1.0	—
食品用レシチン	—	—	5.0
BHT(抗酸化剤)	0.02	0.02	0.02

注) 炭水化物 : コーンスターチ : スクロース (2 : 1)

ビタミンミックス及びミネラルミックス : 日本クレア(株)製 AIN-76

★ ★ 【0017】

表5 血液の分析結果

	通常飼料	セブプロシド添加	レシチン添加
血清トリグリセリド (mg/dl)	180 ± 17	164 ± 13	159 ± 20

9			10
血清リン脂質 (mg/ml)	175 ± 5	141 ± 7	150 ± 7
血清全コレステロール (mg/dl)	96 ± 3.4	74 ± 3.9	76 ± 2.9
同HDL-コレステロール (mg/dl)	70 ± 2.3	56 ± 3.3	58 ± 2.3
血清過酸化脂質 (nmol/ml)	1.1 ± 0.26	0.6 ± 0.05	0.5 ± 0.09

【0018】実施例4
参考例1により得られたセブレロシドを主成分とする画分F-4-3（以下、CE画分と略記することがある）について、コレステロール負荷食（表6）を給与したラットでのコレステロール低下作用を調べた。試験は5週令のWistar系雄性ラット6匹を1群とし、コレステロール負荷*

*飼料、これに前記CE画分を1%もしくは市販食用レシチンを5%添加した飼料で6日間飼育した。飼育法及び試験法は実施例3に準じた。試験結果は表7に示すように、CE画分を1%添加飼料を給与した区では顕著な血中コレステロール低下作用が見られた。

【0019】

表6 コレステロール負荷試験用飼料の組成

	通常飼料	CE画分添加飼料	レシチン添加飼料
カゼイン	20.0	20.0	20.0
炭水化物	57.3	57.3	57.3
セルロース	5.0	5.0	5.0
ビタミンミックス	2.0	2.0	2.0
ミネラルミックス	5.0	5.0	5.0
メチオニン	0.3	0.3	0.3
塩化コリン	0.3	0.3	0.3
大豆油	10.0	9.0	5.0
CE画分	—	1.0	—
食品用レシチン	—	—	5.0
BHT（抗酸化剤）	0.02	0.02	0.02
コレステロール	0.5	0.5	0.5
コール酸ナトリウム	0.25	0.25	0.25

注）炭水化物、ビタミンミックス及びミネラルミックスは表2と同じ

※ ※【0020】

表7 血液の分析結果

	対照飼料	CE画分添加飼料	レシチン添加飼料
血清トリグリセリド (mg/dl)	150 ± 16	158 ± 15	220 ± 26
血清リン脂質 (mg/ml)	196 ± 3.5	165 ± 8.6	197 ± 4.5
血清全コレステロール (mg/dl)	279 ± 15.6	186 ± 7.5	196 ± 10.8

11			12
同HDL-コレステロール (mg/dl)	27 ± 1.5	27 ± 1.4	35 ± 0.9
血清過酸化脂質 (nmol/ml)	1.10 ± 0.13	0.98 ± 0.07	1.17 ± 0.19

【0021】

【発明の効果】本発明の方法により、市販のレシチン等
を原料としてステリルアシルグリコシド、ステリルグリ
コシド、セレブロシド及びジグリコシルグリコシド等の*

*糖脂質を高純度で取得することが可能となった。そし
て、これにより得られるセレブロシドを主成分とする画
分は優れたコレステロール低下作用を有し、医薬品また
は機能性食品用の素材として有用なものである。

フロントページの続き

(51)Int.Cl.⁷

識別記号

F I

C 0 7 H 15/10

C 0 7 H 15/10

C 0 7 J 9/00

C 0 7 J 9/00

(58)調査した分野(Int.Cl.⁷, D B名)

A61K 35/78

A61K 31/70

A61P 3/06

C07H 1/08

C07H 15/04

C07H 15/10

C07J 9/00

B I O S I S (D I A L O G)

C A (S T N)

M E D L I N E (S T N)